

D/13.799/I

Doktori értekezés tézisei

**REGENERATIV SYNAPTO – NEOGENESIS
A GERINCVELŐBEN**

Doktori értekezés tézis-szerű összefoglalásban

Írta:

Dr. Knyihár Erzsébet

SZEGED

1988

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

KÉRDÉSFELVETÉS*

Míg az alacsonyabb rendű gerincesek idegrendszere új idegsejtek képződését is involváló regenerációs kapacitással bír, az emlősöké (a szaglóhám neuroepithel-rétegétől eltekintve) erre nem képes. Így itt az idegszövet hisztológiai értelemben vett regenerációja, amely, humán gyakorlati jelentősége folytán, több mint egy évszázad óta az orvosbiológiai kutatómunka középpontjában áll, lényegében a sérült axonok proximális csomkjából kinőtt nyúlványok és végkészülékük újraképződését jelenti.

Általános felfogás szerint teljes értékű regenerációra – amikor az elveszett funkciók is hiánytalanul helyreállnak – emlősökben csak a perifériás idegrendszerben kerül sor; másszóval, csak a ganglionlécből (illetve a placodiumból) származó perifériás neuronok, valamint az agytörzsi és gerincvelői motoneuronoknak, továbbá a vegetatív idegrendszer praeganglionáris neuronjainak a központi idegrendszert elhagyó axonjai képesek regenerálódni. Ezzel szemben a központi idegrendszer strukturális–funkcionális regenerációs képessége a filogenezis során, a funkcionális specializációval párhuzamosan egyre inkább beszűkül.

Vitathatatlan rigiditásuk mellett azonban az emlős központi idegrendszeri neuronok latens genuin plaszticitással is bírnak: differenciálódásuk során nem veszítik el helyrehozhatatlanul axonjaik növekedési képességét, s regenerációs kapacitásukat felnőtt korukra is megőrzik. Az új nyúlványok hosszirányú növekedése azonban limitált; így a regeneráció az esetek többségében paraterminális axonális burjánzás formájában nyilvánul meg, s a károsodott centrális axonok regenerációja ennek megfelelően lényegileg abortív jellegű. Emellett, az idegszövetben bekövetkezett károsodások helyreállítására való készség emlősökben is függ a kísérleti állat fajától, korától, valamint a károsodott rendszer neurokémiai sajátosságaitól is. Az újraképződés esélyei jobbak a fiatalabb, mint

*A római számok (I-XVII) az értekezés alapjául szolgáló közleményekre, a betűrövidítések (PG, EN) a "The Protean Gate" c. könyvre illetve az "Encyclopedia of Neuroscience" könyvfejezeteire utalnak. Az arab számok (1-117) a tézisek saját irodalmi apparátusának hivatkozásai

az idősebb szervezetben; a noradrenerg rostok regenerációs kapacitása pedig nagyságrendekkel haladja meg az aminaciderg és neuropeptiderg rendszereket. Ramon y Cajal klasszikus kijelentése lényegileg azonban ma is igaz: "...a központi idegrendszerben az idegpályák rögzültek, véglegesek, változhatatlanok; minden elpusztulhat, de semmi sem képződik újra"¹.

Regenerációs inertiója mellett régóta ismert sajátossága a központi idegrendszernek a funkcionális adaptáció képessége. E jelenség morfológiai bázisának mind a perifériás, mind a centrális neuronok esetében az épen maradt idegrostok burjánzó kollaterálisait tekintik. Ez azonban nem jellemző egyformán a központi idegrendszer valamennyi részére; arról nem beszélve, hogy a kollaterális burjánzás klinikai megfigyelések szerint mind a perifériás, mind a központi idegrendszerben súlyosabb következményekkel járhat, mint az eredeti funkciókiesés (pl. tűrhetetlen fájdalom, dysfunctió fellépése, spinális sokk vagy spasticitás kialakulása). Ma is aktuális Kerr azon megállapítása, miszerint "...the central nervous system may in fact be better off from an absence of neuroplasticity than if it still retained this property, since maladaptive regeneration following injuries might result in gross disorders of motor or sensory function"².

Az elmúlt évek kétségtelenül legígéretesebb próbálkozásai a teljes értékű regenerációt célzó transzplantátumokkal ill. sejtsuspensiókkal végzett kísérletek. Annak ellenére, hogy ezek az eredmények az utóbbi évek irodalmában, különösen a klinikum aspektusában gyakran túlzott optimizmust keltettek, a központi idegrendszeri regeneráció problémájának megoldása reális közelségbe került, bár Raisman szavaival élve "nagyon valószínűnek látszik, hogy a Cajal-féle determinisztikus szemlélet cáfolatát még ez az évszázad sem fogja meghozni számunkra"³.

A központi idegrendszer regenerációs inertiója számos alapvető neurobiológiai kérdést vet fel. A retrográd neuronális degeneráció megakadályozása céljából szükség van az eredő idegsejtek életképességének fenntartására, amit a célsejt-eredetű trophikus ill. permisszív faktorok tesznek lehetővé. A regenerálódó axonok számára kedvező környezetre van szükség, mely elősegíti a nagyobb távolságok áthidalását, valamint biztosítja az axonok direkcionális növekedését, ami az extracelluláris tér és a sejtfelszín kölcsönhatása révén valósul meg specifikus adhaesiós molekulák és receptorok közreműködésével. Ebben a folyamatban a szupportáló gliális elemek mind pozitív, mind negatív irányban jelentős szerepet töltenek be. Pozitív hatásuk magába foglalhatja a neuron felé irányuló trophikus, promoteáló és tactilis stimulusokat; a negatív hatásokat elsősorban a gliasejtek proliferációja, hypertrophiája és fibrotizációja okozza a következményes hegképződéssel együtt. Végül pedig még ma sem ismert pontosan a regenerálódó praesynaptikus elemek és specifikus célsejtjeik közti "korrekt" synaptogenetikus folyamatok szelektivitásának mechanizmusa, melynek segítségével létrejön a végleges reinnerváció. Azok a faktorok, melyek ebben a folyamatban résztvesznek, csak bonyolult explantációs, implantációs illetve transzplantációs kísérletekben identifikálhatók. Ezért tartottuk figyelemre

méltónak azt az általunk felismert, a természet által eleve adott gerincvelői regenerációs jelenséget, amely a periférikus érző idegrostok degenerációját követő transganglionáris degeneratív atrophia után teljes szerkezeti rekonstrukcióhoz vezet a központi idegrendszerben, s amelyet először "regeneratív proliferáció"-ként ismertettünk⁴. Úgy véljük, e folyamat különböző kísérleti körülmények között tanúsított viselkedése modellként szolgálhat a központi idegrendszer regenerációs kapacitása, valamint a synaptogenesis és a synapto-neogenesis ok-okozati összefüggéseinek megértéséhez; ugyanakkor választ adhat arra vonatkozólag is, hogy az érett neuronok sajátosságait mennyire befolyásolja a növekedési szignálok eltűnése ill. a szignált felvevő receptorok elvesztése. Az idegrostok növekedését indukáló faktorok megismerése mellett alapvető kérdés: mi az, ami rendeltetési helyükre vezeti őket és hogyan történik meg a precíz kapcsolatok megteremtése, a funkcionális szempontból is teljesértékű reinerváció. Feltételezzük, hogy e törvényszerűségek extrapolációjával más központi rendszerek regenerációjának problematikája is megközelíthetővé válik. Ezért értekezésemben a regeneratív proliferáció fény és elektroncitokémiai jellegzetességeit elemzem az ontogenetikus történések tükrében az utóbbi 13 év kutatásaira támaszkodó közléseim alapján.

AZ IRODALMI ELŐZMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Az alacsonyabbrendű gerincesek regenerációs készsége a gerincvelő területén is nagyfokú^{5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14}. A regenerációs készség a nem-emplős gerincvelőben minden bizonnyal multikauzális jelenség, amiben nyilván szerepet játszik az a körülmény, hogy itt a neurogenesis az egész élet folyamán tart^{15, 16}. Emlősökben azonban a regenerációs hajlandóság – mely elsősorban a gerincvelői harántlaesiót követően a proximális axoncsomókban mutatkozik, s ami már az ezüstimpregnációs technika kifejlődése óta ismeretes^{17, 18, 19, 20}, épp úgy abortív jellegűnek bizonyult, mint a központi idegrendszer egyéb területein^{21, 22}. Az abortív regeneráció egyik fő okának a mechanikai barriert képező neurogliális heg kialakulását tartják^{1, 23}, de nyilvánvalóan nem ez az egyetlen ok.

Az 1950-es években nagy reményeket keltettek Windle^{24, 25} megfigyelései, amikor is kiderült, hogy a hegképződés pyrogen bakteriális polysacharidokkal (pl. Piromen) és a még hatékonyabb ACTH adagolásával gátolható²⁶. A kezelések eredményeként némi funkcionális restitúciót is megfigyeltek; sajnos, egy idő elteltével minden funkció eltűnik és bekövetkezik a spastikus paraplégia állapota. A Bernstein házaspár^{27, 28} ultrastrukturális vizsgálatai hívták fel a fi-

gyelmet arra, hogy a gerincvelői regeneráció abortív jellegében fontos szerephez jutnak a postsynaptikus elemek változásai, aminek eredményeként változatos synaptikus rekombináció alakul ki a sérüléstől proximálisan. Többek között ezért sem nőnek be a célterületre a regenerálódó rostok.

Minthogy a gerincvelőben – ugyanúgy, mint általában a központi idegrendszerben – Büngner-szalagok nem alakulnak ki, a regenerálódó axonok növekedésük során nem kapnak irányítást. Ezért történtek próbálkozások arra nézve, hogy izom- vagy periferiás idegdarabok implantációja révén létesítsenek ilyen irányító elemet²⁹. Kao³⁰ a "subpiális gerincvelői átvágás" technikájával próbálta a gerincvelői regenerációt előmozdítani. Elektronmikroszkópos vizsgálatai nyomán kitűnt, hogy még a legprecízebb műteti technika ellenére is, a beültetett idegek dislocálódnak, vagy elszeparálódnak az ép csonttól az ún. szekundér kötőszöveti heg révén. A jelenség oka egy, már Cajal óta ismert folyamat, a gerincvelő ún. autotómiája; ennek korrigálására dolgozták ki a "késleltetett mikrosebészeti subpiális idegbeültetés" ("delayed microsurgical subpial nerve grafting") műteti technikáját. A módszer eredményeként ezüstimpregnáció segítségével, ha csak sporadikusan benövő rostok formájában is, morfológiai restitúciót sikerült demonstrálni.

Ismeretes, hogy a gerincvelő bőséges innervációt kap a noradrenerg és serotoninergerg neuronális rendszerekből. A leszálló monoaminerg axonok mind az egyszerű gerincvelői átmetszést követően, mind a gerincvelői implantátumokban jelentős növekedési hajlandóságot mutatnak³¹. A monoaminerg rostokban egyes neurotoxinok (pl. 5-6 DHT) szelektív axonális degenerációt idézhetnek elő. A kémiai axotómiát követően – összehasonlítva a mechanikai károsodásokkal – amellet, hogy nem képződik heg szövet, s a többi neuronális elem is sértetlen marad³², kiterjedtebb anatómiai restitúció jön létre^{33, 34}. A regeneráció folyamata azonban sajnos mindkét esetben valódi synapsisok kialakulása nélkül zajlik le.

Jelentős növekedési képességgel rendelkeznek a hátsó kötegi rostok is, amint azt a periferiás idegbeültetési kísérletek igazolják^{35, 36}; a permisszív környezetben kinövő idegrostok synapsisok képzésére azonban láthatólag nem képesek^{37, 29, 38, 39}.

A felnőtt idegrendszerre jellemző abortív regenerációval ellentétben fiatal emlős állatok gerincvelőjében funkcionális restitúció figyelhető meg, amit egyesek a károsodott axonok regenerációjának tulajdonítottak^{37, 29, 38, 39}. Ezzel szemben mások^{40, 41} az újszülött és a fiatal emlősökben létrejövő fiziológiás értékű regenerációt úgy magyarázzák, hogy ezeknek az állatoknak az idegrendszere a születést követően még egy ideig éretlen marad, s így az idegrostoknak a sérülést vagy a műtétet követő növekedése nem regeneráció, hanem a sérülés utáni időszakban esedékes neurogenesis eredménye.

A gerincvelői hátsó gyökök átmetszését követő Waller-féle degeneráció után egyértelműen nem következik be regeneráció^{42, 43}. Annak ellenére, hogy a

spinális dúcsejt elvileg ugyanolyan regenerációs képességgel kellene rendelkeznie, mint a ganglionlécéből származó többi neuron, centrális nyúlványa nem tud funkcióképesen regenerálódni. Ezek ugyan sarjadzásnak indulnak a hátsó gyökök perifériás szakaszaiban, de a gerincvelőbe nem jutnak be, holott az embrionális élet során a fejlődésnek ez a normális menete. A postnatális élet folyamán azonban a hátsó gyökér központi idegrendszeri szakaszaiban a regenerációt az astrocyták megakadályozzák^{44, 45}. Míg az éretlen glia-sejtek az extracelluláris matrix termelése révén elősegítik az axonok növekedését, a differenciálódás során ezt a tulajdonságukat elvesztik, sőt a regenerációt gátolják.

Újszülött patkányban a hátsó gyöki sérüléseket követően CGRP immunhisztokémiai, HRP jelölési és ultrastrukturális vizsgálatok segítségével sikeres regenerációt mutattak ki^{46, 47}. Ebben a fejlődési stádiumban ugyanis még nincs meg az az átmeneti zóna, mely a hátsó gyökérnek a Schwann sejtek, illetve az astrocyták által borított szakasza közti átmenetet képviseli⁴⁸; ezen ún. juxtamedulláris szakasz átrendeződése csak a későbbiek során következik be. Ezért a hátsó gyököknek a korai postnatális élet során történő roncsolását követően még nincsenek jelen a regenerációt megakadályozó astrocyták, s a lokális miliónek csak a Schwann sejtek által kifejtett supportáló hatása jut érvényre.

(A mellső gyökök kitépése után a motoneuronok axonja újra kinő, sőt ezek új mellső gyököket képeznek⁴⁹; feltehetőleg azért, mert a mellső gyökök és a gerincvelő találkozásánál nincs astrocyta barrier.)

Három évtized óta folyik a vita a "kollaterális burjánzás" (collateral sprouting) elméletével kapcsolatosan is⁵⁰. A "megkímélt gyökér" (spared root) néven ismert gerincvelői preparátumokban kettős degenerációval illetve autoradiográfiás módszerekkel észlelt innerváció-kiterjeszkedésről ugyanis nem lehet tudni, vajon képeznek-e synapsisokat a kinövő rostok? Egyes spinális reflexek visszatérése arra utal, hogy az újonnan kinövő rostok szerepet játszanak a funkcionális kompenzációban; de ez funkcionális plaszticitással is magyarázható. Liu és Chambers eredményeit a vizsgálatok egész sora támasztotta alá^{51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59}, de legalább annyian cáfolták is meg^{60, 2, 61, 62, 63, 64} mind ultrastrukturális, mind hisztokémiai illetve immuncitokémiai módszerek alkalmazásával. A kérdést bonyolítja a "collateral sprouting" kifejezés szemantikai kétértelműsége⁵³, valamint a "visszametszést" (pruning) követő sarjadzás lehetősége.

Saját modellünk esetében a primér érző (spinális) ganglionsejtek központi nyúlványairól van szó; ezek centrális végkészülékének biodinamikai reakcióit elsősorban a perifériás nyúlvány átvágását, roncsolását, illetve a perifériás nyúlvány axoplasmatikus transzportjának blokkolását követően tanulmányoztuk. Ezek a beavatkozások a centrális nyúlványok transganglionáris degeneratív atrophiját eredményezik (TDA), melyet teljes értékű strukturális és funkcionális helyreállító folyamat követ; egy olyan regeneráció, mely a normálshoz minden tekintetben hasonló synapsisok újraképződésével jár.

VIZSGÁLATI ANYAG ÉS MÓDSZER

Az értekezésben foglalt vizsgálatok 12 ivarérett, mindkét nembeli *Macacus rhesus* majmon, 38 különböző korú majom-embrión, valamint közel 900 fiatal CFY ill. OFA fehér patkányon történtek. Az alkalmazott módszerek felölelik a standard transzmissziós elektronmikroszkópos technikát (I. p. 74; VI. p. 358), a fény- és elektronmikroszkópos FRAP (I. p. 74; IV. p. 120–121) és TMPase (XII. p. 363; XVI. p. 4) enzimhisztokémiai eljárásokat, a P-anyag (Substance P, SP) kimutatására szolgáló fény- és elektronmikroszkópos immuncitokémiai módszereket (IX. p. 392; XVII. p. 5), valamint a hisztokémiai preparátumok elektronikus képanalizátorral való kvantitatív kiértékelését (XVI. p. 6), továbbá az enzim- és immuncitokémiai reakció térbeli megoszlásának számítógépes feltérképezését (XVI. p. 5; XVII. p. 6), végül az idegsejtek embrionális generációs időpontjának meghatározását szolgáló ³H-timidin autoradiográfiás módszert (PG p. 224). A kísérleti műtéteket majmok esetében steril körülmények között, aszeptikus műtőben, a patkányok esetében laboratóriumi körülmények között, minden esetben általános anesztéziában végeztük.

TRANSGANGLIONÁRIS DEGENERATÍV ATROPHIA (TDA)

A neuron trophikai egységére vonatkozó klasszikus elmélettel látszólag ellentétben, a pseudounipoláris primér érző neuronok központi végkészüléke sajátos függő viszonyban van a periférikus nyúlvány épségével, pontosabban az abban lezajló retrográd axoplasmatikus transzporttal. Amennyiben a retrográd transzport leáll, (s ezt okozhatják a periférikus axon mechanikus sérülései vagy pedig mikrotubulus-gátló kémiai anyagok) úgy az axon központi terminálja s annak praeterminális szakasza egy, a Waller-féle degenerációhoz hasonló, de annál lassúbb lefolyású atrophias folyamat áldozatául esik (EN p. 306–307). A terminál destrukciója vagy (i) a vesiculolysis-sel kezdődő, elektronlucens formába torkolló, s végül fantasztikus spiralizált szerkezetű labirintus-képződéssel záródó formát, vagy pedig (ii) az elektronrendez zsigorodást mutató típust követi. Ezek a változások *rágcsálókban* (IV. p. 68 Fig. 41/b, c; p. 70 Fig. 43/a, b; I. p. 76 Fig. 3–5; p. 78 Fig. 7–8) és *főemlősben* (PG p. 114 Fig. 7.4; p. 119 Fig. 7.5; p. 120–124 Fig. 7.6–7.10) egyaránt jellegzetesen megváltoztatják a substantia gelatinosa Rolandi glomeruláris szerkezetét, melyben – normális körülmények között – három jól elkülöníthető primér afferens axon-terminális: az elektronrendez axoplasmával bíró (DSA), a relatíve sok sötét bennékű synaptikus vesiculával rendelkező (LDCV) és a kizárólag szferikus vesiculákat tartalmazó (RSV) sinusoid típus jelzi a C, A δ és A β rostok végződéseit (VI. p. 361 Fig. 2/A, B; p. 362 Fig. 3/A, B, C; p. 262 3/D, E, F; p. 364 Fig. 4), s amelyeket komplex periterminális axo-dendritikus, axo-axonális és dendro-dendritikus synapsisok vesznek körül (VII. p. 382 Fig. 5–6; VII. p. 385 Fig. 9/A; VII. p. 387 Fig. 12/C; VII. p. 389 Fig. 15/A; VII. p. 378 Fig. 12/B; VII. p. 391 Fig. 16/A, B, C, D; VII. p. 389 Fig. 15/A, B; VII. p. 385 Fig. 9/B, C, D; VII. p. 387 Fig. 12/D, E). Mind a normális ultrastrukturális organizációt^{64, 65, 66, 67, 68}, mind a TDA-ra jellemző elektronmikroszkópos változásokat illetően számos európai és amerikai^{69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78} laboratórium megerősítette vizsgálatainkat.

A TDA legjellegzetesebb következménye a primér érző neuronok genuin marker enzimjeinek (FRAP=fluorid rezisztens savi foszfataáz: I. p. 75, Fig. 1; IV. p. 66, Fig. 40; III. p. 216, Fig. 11/a, b; III. p. 220, Fig. 14/a, b; IV. p. 94, Fig. 52; és TMPase=thiamine monophosphatase, XII. p. 368, Fig. 11/a, b, c; Fig. 12), neuropeptidjeinek (P-anyag, IX. p. 397 Fig. 6/a, b; p. 398 Fig. 7/a, b; somatostatin, stb.), valamint a sejtmembrán lectin-pozitív szénhidrát-epitopjainak (emberben fucose, patkányban α ill. β -galactose, XV. p. 215 Fig. 3; p. 217 Fig. 8, 9) depleciója az érintett terminálokból.

A TDA folyamán jelentősen átrendeződnek a hátsó szarvi opiát receptorok; ezek normális körülmények között praesynaptikusan helyezkednek el, míg a perifériás ideg átvágása után postsynaptikus lokalizációt mutatnak (VIII. p. 668 Fig. 2/c), ami minden bizonnyal a TDA-t követő transneuronális (transsynaptikus) degenerációval függ össze (lásd később).

A TDA során a hátsó gyöki potenciál (DRP, amely a hátsó szarv synaptikus aktivitására jellemző elektrofiziológiai jel) jellegzetes változásokat mutat: amplitúdója csökken és latenciája jelentősen megnövekszik (PG p. 140–143, Fig. 9/12, 9/3). A DRP-nek a TDA során bekövetkező változásait is többen igazolták^{79, 80, 81}.

A TDA oki tényezői közül kiemelkedik az idegnövekedési faktor (NGF) hiánya. Ezt a polypeptidet az érző idegrostok perifériás receptorai veszik fel a környezetükből s normális körülmények között retrográd axoplasmatikus transzport révén jut el a spinális (és agyidegi) érző dúcok ganglionsejtjeibe. Itt, egy egyelőre ismeretlen második messenger révén szabályozza a neuropeptidok és neuroproteinek szintézisét és azok megkötését. Amennyiben az érző ganglionsejtek NGF ellátása megszűnik, úgy a sejt centrális terminálja atrophizál, s ettől kezdve többé nem képes megkötni az említett genuin jelzőanyagokat. Az NGF esszenciális szerepét a központi terminál funkcionális és struktúrális épségének biztosításában radiokémiai, immunhisztokémiai és neurocitokémiai kísérletek bizonyítják. Indirekt bizonyítékok szólnak amellett, hogy az NGF felelős a hátsó gyöki axonok és terminálok felszíni sejtmembránjaihoz kötött glykokonjugátumok (fucose, α és β -galactose epitopok) megkötéséért is.

Az NGF retrográd transzportját lokálisan alkalmazott mikrotubulus-gátló szerek (colchicin, griseofulvin, podophyllotoxin), valamint számos Vinca alkaloida (vinblastin, vincristin, vindesin, leurosin, formyl-leurosin stb.), az axon mechanikai károsodását előidéző beavatkozások (átvágás, zúzás, roncsolás, lekötés), továbbá az NGF-el kompetitív antagonizmusba lépő bázikus peptidek (elsősorban a Polymyxin B és a Colimycin) gátolják. Mindezen beavatkozások értelemszerűen TDA-t okoznak a szegmentálisan érintett, ipsilaterális hátsó szarvban, ami különösen feltűnő annak felszínes rétegeiben: elsősorban az I–II. laminában.

TRANSNEURONÁLIS DEGENERÁCIÓ

Annak ellenére, hogy a transneuronális degeneráció néven ismeretes elváltozásokat hosszú időn keresztül csak egyes körülírt központi idegrendszeri régióra tartották jellemzőnek, ma úgy tűnik, hogy általános jelenségről van szó, amely a gerincvelő különböző területeit is érinti (PG p. 154–158; V. p. 132; EN I. p. 308–309; továbbá ^{77, 81, 82, 83}).

A transneuronális (trans-synaptikus) degeneráció során a sensoros láncolatnak a sérült láncszemet követő tagja (egy eredetileg ép neuron, mely synaptikusan kapcsolódik a sérült neuronhoz) degenerálódik. Ezért joggal várható, hogy az előző fejezetben ismertetett elváltozások, melyek a primér sensoros axon-terminálisok mindhárom típusában (C, A δ és A β rostok végződéseiben) a TDA során morfológiai destrukciót és funkcionális deprivációt eredményezve végbemennek, a velük synaptikus kapcsolatban lévő postsynaptikus neuronokban másodlagosan transneuronális elfajulást váltanak ki.

A n. ischiadicus átvágása után az intumescencia lumbalisban már fénymikroszkópos szinten is fellelhető a substantia gelatinosa Rolandiban néhány elszórtan elhelyezkedő, sötétre festődő idegsejt; ezek száma a későbbiekben növekszik.

Ultrastruktúrális szinten a transneuronálisan degenerálódó neuronok zsugorodottak, s elektrondenzitásuk fokozódott. A citoplazma homogén szerkezetet mutat; a hajdani sejtorganellumok csak nyomokban találhatók meg. A magállomány sűrű granulált anyagot tartalmaz (PG p. 160, Fig. 12.1). A legsúlyosabb esetekben a perikaryon zsugorodása következtében a pericelluláris tér erősen kitágul, s a sejthatárok szabálytalanná válnak. A sejtek széttöredezését nem figyeltük meg, ami arra enged következtetni, hogy az elváltozások nem irreverzibilisek.

A transneuronális degeneráció jeleit mutató sejtekben a sejthártya alatti ciszternák is jellegzetes változáson mennek keresztül. A ciszternák lamellái között lévő matrix sötétedik, aminek oka láthatólag az, hogy a ciszternális membránhoz tapadó riboszómák közötti teret finom granuláris alapállomány tölti ki (PG p. 161, Fig. 12.2. a -g). A ciszternákkal átellenben a sejtfelületen legtöbbször filamentumokkal telt gliatopak (PG p. 161, Fig. 12.2 a, b, e), vagy ciliumokat (PG p. 161, Fig. 12.2 c) találunk. Ezeknek az ún. "subsurface" ciszternáknak a transneuronális degeneráció során történő felszaporodását azóta mások vizsgálatai is megerősítették ^{84, 77}.

A sejtfelület alatti ciszternáknak az idegsejtek metabolizmusában és a receptor proteinek szintézisében betöltött szerepe régóta ismert (PG p. 171). Az a jelenség, hogy a transneuronális degeneráció ezeknek a ciszternáknak a morfológiai elváltozásaiban érezteti először a hatását, azt sugallja, hogy szerepük

lehet a transneuronális degeneráció pathomechanizmusának kialakulásában, valószínűleg a receptor proteinek metabolismusában beállott zavar miatt.

A citoplazmára jellemző destrukció érinti mind a primér, mind a szekundér ill. terciér dendriteket, valamint az axon teljes arborizációját is. A fő dendritörzsekben a citoplazma finom granuláris anyaga felszaporodik, ezáltal a dendritek elektrondenzitása fokozódik. A primér dendritek az elektronmikroszkópos preparátumokban főleg az I. és II. lamina területén hosszan követhetők. Ezek a degenerálódó dendritek részben a TDA jeleit mutató LDCV sinusoidokhoz kapcsolódnak, sőt a normálistól eltérő módon egy-egy LDCV sinusoid között áthidaló elemként is szerepelnek (PG p. 162, Fig. 12.3, Fig. 12.4). Hasonló elváltozásokat írt le azóta Kappadia és La Motte⁷⁷ is.

Transneuronálisan degenerálódó szekundér és terciér dendritek a legnagyobb számban a III. laminában lévő RSV glomerulusokban fordulnak elő, ahol synaptikus viszonyaik is tanulmányozhatók, mivel synaptikus specializációjuk csaknem kivétel nélkül megtartott (PG p. 163, Fig. 12.6; V. p. 133, Fig. 1).

Mint már említettük, az RSV glomerulusok centrális elemét kizárólag szferikus synapticus vesiculákat tartalmazó sinusoidok (RSV terminálok) alkotják. A degeneratív atrophia során ezek az axonvégződéses filamentosus típusú Waller-féle degenerációhoz hasonló elváltozásokat mutatnak; bennük a normális körülmények között is meglévő filamentumok felszaporodnak, s a synapticus vesiculák összezsugorodnak. A transneuronálisan degenerálódó dendritek az elváltozások különböző stádiumait mutatják: az enyhe denzitásbeli fokozódástól (PG p. 163, Fig. 12.6), az elektrondenz zsugorodott formáig (V. p. 133, Fig. 1); szomszédságukban azonban mindig vannak ép dendritek is.

A transneuronálisan degenerálódó dendritek mellett érintett a glomerulus harmadik alkotó eleme, az ún. "F-bouton" is. Ezek kizárólag ovoid synapticus vesiculákat tartalmaznak; a gerincvelői hátsó gyökök átvágása után épen maradnak (tehát nem hátsó gyöki eredetűek). Az "F-bouton" az RSV sinusoiddal axo-axonális synapsist képez, rendszerint kétirányú synaptikus polarizációval (PG p. 167 Fig. 12.9 a, b).

Mind az I., mind a II. laminában számottevő azoknak a transneuronálisan degenerálódó dendriteknek a száma, melyek ép szerkezetű, nem-sinusoid jellegű axonvégződéssel synaptizálnak; ezek az axonok a hátsó gyök átvágása után is épek maradnak, tehát valószínűleg intraspinalis vagy descendáló elemek (PG p. 162 Fig. 12.4, 12.5; V. p. 133 Fig. 2).

A transneuronális degeneráció okozta elektrondenz elváltozások a szelektív festési eljárásokhoz hasonlóan detektálják a károsodott interneuronok arborizációs mintázatát. Egyes megfigyelések szerint⁸⁵ a rhizotomiát követő Waller-féle degeneráció után nem következnek be transneuronális degeneratív változások. Valóban, a Waller-féle degeneráció korai szakaszában, amikor a degenerálódott primér afferens végződés synaptikus viszonyai még teljesen meg-

tartottak, a postsynaptikus elemekben morfológiai elváltozások nem észlelhetők. Később azonban ⁷⁷ rhizotomia után is ugyanúgy kialakul a transneuronális degeneráció, mint a TDA után.

A transganglionáris és transneuronális degeneráció időbeli egybeesése lehetővé teszi a primér szenzoros láncolat első két tagja synaptikus kapcsolatainak tisztázását. Ezek szerint:

(i) A SG sejteknek multiplex innervációjuk van, amely a vastag ($A\beta$) és a vékony ($A\delta$, C) primér afferensekből, valamint a propriospinális és/vagy descendáló elemekből származik.

(ii) A substantia gelatinosa (SG) sejtek dendritjei többféle afferenssel synaptizálnak.

(iii) Egy primér afferens több SG sejttel synaptizál.

(iv) Az $A\beta$ rostok végződése által létrehozott RSV glomerulusokban szereplő praesynaptikus dendritek SG sejtekből (is) származnak.

(v) Az SG sejtek axonjai ovoid synaptikus vesiculákat tartalmaznak ("F-bouton"); ennek megfelelően ezeket az axonokat gátló típusúaknak tekinthetjük.

(vi) Az "F-boutonok" a vastag rostok RSV sinusoidjaival bidirekcionális synaptikus kapcsolatot képeznek.

RESTITUTIO A TRANSGANGLIONÁRIS DEGENERATÍV ATROPHIA UTÁN

Amennyiben a perifériás ideg anatómiai kontinuitása helyreáll, úgy a TDA-t követően megindulnak a destruálódott hátsó szarvi synapsisok helyreállítását célzó restitutív folyamatok. A szabályos növekedési kúpokkal ellátott regenerálódó hátsó gyöki rostok egy, az embrionális synaptogenesishez sok tekintetben hasonló folyamat révén, redundáns axonburjánzást hoznak létre; ebből egy, ugyancsak az embrionális fejlődésmenethez hasonló szelektív válogatás eredményeként jön létre végül újra az eredeti struktúra. A szerkezeti helyreállással egyidőben megtörténik a genuin marker anyagok (enzimek, neuropeptidek, membrán-glykokonjugátumok) repletiója. A továbbiakban ezt a két egybekapcsolódó folyamatot elemezzük, a hátsó szarv embrionális fejlődésmenetének tükrében.

A SYNAPTO – NEOGENESIS ULTRASTRUKTÚRÁLIS FOLYAMATAI

1. **Axonális növekedési kúpok.** A Rolando-állományban burjánzó axonok szerkezete feltűnően hasonló azokhoz az axonális növekedési kúpokhoz, melyekkel a központi idegrendszer embrionális fejlődésmenete során találkozunk. A burjánzó axon kitágult szakasza nagy mennyiségű síma felszínű endoplazmás retikulumot ("axoplazmatikus retikulum"), mitochondriumot, vesiculát és neuro-(micro-)tubulust tartalmaz (PG p. 202, Fig. 15/2; X. p. 636, Fig. 5–6–7; XI. p. 195, Fig. 4–5; p. 194, Fig. 2–3). A burjánzás jele, hogy nemcsak a növekedési kúpok, hanem az axonok praeterminális, myelinizált szakaszai is jelentős mennyiségű axoplazmatikus retikulumot tartalmaznak (X. p. 637, Fig. 8–10; XI. p. 196, Fig. 6–7). Az itt ismertetettekhez nagyon sok tekintetben hasonló regeneratív axonburjánzást írtak le a vagus és a glossopharyngeus centralis axon-arborizációjának területén macska nyúltvelőben, az érintett agyidegek axotomiáját követő perifériás regeneráció utáni időszakban⁸⁶.

2. **Axonális filopodiumok.** A burjánzó centrális idegrostok növekedési kúpaiból az embrionális viszonyokhoz ugyancsak nagyon hasonló módon, hosszú, vékony nyúlványok erednek, melyek filopodiumoknak, foliopodiumoknak⁸⁷ vagy lamellopodiumoknak⁸⁸ felelnek meg. E nyúlványok bennékét finom, filamentosus hálózat tölti ki, melyben nagyméretű vesiculákat ill. az érettebb formákban synaptikus vesiculákat találhatunk (X. p. 638, Fig. 11–12, 14; XI. p. 197, Fig. 8–9).

3. **Dendritikus növekedési kúpok.** Az axonális növekedési kúpok vagy filopodiumaik csak ritkán képeznek synapsist érett dendritekkel vagy sejttestekkel; leggyakrabban dendritikus növekedési kúpokkal vagy azok filopodiumaival synaptizálnak. A dendritikus növekedési kúpok rendkívül finom, sűrű szemcsés alapállománnyal bírnak, s gyakran tartalmaznak 100–250 nm átmérőjű vesiculákat (X. p. 638, Fig. 13; p. 639. Fig. 14).

4. **Dendritikus filopodiumok.** A dendritikus filopodiumok nemcsak méretüket, hanem szerkezetüket tekintve is különböznek a dendritikus növekedési kúpoktól, amennyiben bennük csaknem szerkezet-nélküli. Figyelemre méltó, hogy a postsynaptikus denzitások különösen a regeneráció korai stádiumaiban lényegesen kiterjedtebbek, mint normális körülmények között, ami részben a postsynaptikus membrán megvastagodásának, részben a közelében elhelyezkedő poliriboszómák felszaporodásának eredménye (X. p. 638, Fig. 11.; PG p. 210, Fig. 15/10; XI. p. 198, Fig. 10–11; p. 200, Fig. 13–16).

5. **Glia-reakció.** Mind a rhizotomiát követő Waller-féle degenerációra, mind pedig a TDA-ra egyaránt jellemző a gliasejtek hypertrophiája és fibrosisa^{89,77}. A TDA-t kísérő glia-reakció azonban sajátos jelenséggel társul: az

axonális növekedési kúpok filopodiumai dilatált, fellazult citoplazmájú gliaprofilokba nyomulnak be, aminek jelentősége lehet a regenerációs folyamat kimenetele szempontjából (PG p. 208, Fig. 15/9 a, b).

6. **A *synapsisok kialakulása.*** A synapto-neogenesis a központi primér afferens axonterminálok növekedési kúpjaiból kinövő filopodiumok, valamint általában a fentebb említett dendritikus növekedési kúpok, illetve dendritikus filopodiumok között jön létre. A regenerálódó axonok általában nagy, 100–200 nm átmérőjű vesiculákat tartalmaznak (XI. p. 201, Fig. 18–19), a praesynaptikus membránokon számos omega-profil található (XI. p. 200, Fig. 13–17). A synapto-neogenesis a synaptikus specializációk átmeneti formái bizonyítják, a már említett kiszélesedett postsynaptikus denzitásokkal átellenben (PG p. 206, Fig. 15/7; p. 210, Fig. 15/10, X. p. 638, Fig. 11–14). Végül is a regenerálódó hátsó gyöki axonok varicositásaiból kialakuló, fokozatosan sinusoiddá váló *en passant* terminálok és a lokális neuronok dendritikus növekedési kúpjai között glomeruláris synaptikus komplexek jönnek létre. Az axon-terminál heterogén synaptikus vesicula-populációt tartalmaz (XI. p. 202–203, Fig. 20–25).

A regeneratív synapto-neogenesis során megfigyelhetők olyan aberrans synapsis-szerű kapcsolatok is, amelyek a kontrollként szolgáló normális gerincvelőben soha nem fordulnak elő. Ezek myelinhüvelyes axonok és dendritikus filopodiumok, illetve növekedési kúpok között jönnek létre (PG p. 211, Fig. 15/12; XI. p. 204, Fig. 26–27). Ilyen aberrans formák különböző genetikailag károsodott fajokban ⁹⁰, Rtg-besugárzás ⁹¹ vagy vírusok hatására ⁹² is előfordulhatnak. Úgy tűnik, a regeneráció során redundáns mennyiségű synapsis jön létre, minthogy az újonnan képződő, fiatal, éretlen axonok és synapsisok egy része degenerációs jeleket mutat. Ez a folyamat analóg a következő fejezetben ismertetett embrionális synaptogenesis során kialakuló transiens synapsisok felszámolásával (II. p. 1208, Fig. 2A).

SYNAPTOGENESIS A FŐEMLŐS GERINCVELŐ EMBRIONÁLIS FEJLŐDÉSE SORÁN.

A gerincvelő embrionális fejlődése során az elemi velőcső szerkezete a rostro-caudalis gradiens törvényszerűségét követve fokozatosan éri szerkezeti és működési érettségét. Emellett az idegsejteknek az ependymális zónában történő generálódása, ^3H -thymidinnel végzett autoradiográfiás kísérleteink szerint, egy jól kifejezett ventro-dorsalis gradienst is követ, aminek következtében leghamarabb a IX. lamina idegsejtjei, utoljára pedig a hátsó szarv felszínes rétegei alakulnak ki. Mindezek mellett érvényesül egy "makro-mikrocelluláris"-nak nevezhető gradiens is; így pl. a mellső szarvban először a nagy motoneuronok alakulnak ki s az interneuronok csak később generálódnak. Ugyanígy, a hátsó szarvban hamarabb jönnek létre az I. lamina nagy Waldeyer-féle idegsejtjei, s csak később kerül sor a substantia gelatinosa Rolandi kisméretű idegsejtjeinek generálódására.

Az idegsejtek generálódását azok vándorlása követi. A gerincvelő viszonylag egyszerű szerkezeti felépítési elvéből következik, hogy a migratio iránya gyakorlatilag a medio-laterális tengelyre korlátozódik, bár egyes sejtcsoportok (pl. a nucleus intermedio-lateralisban tömörülő autonom praeganglionáris neuronok) esetében ventro-dorsalis migratio is megfigyelhető.

A synapsisok képződése a gerincvelő lamina alarisában és lamina basalisában ugyancsak a ventro-dorsalis gradienst követi. Az első synapsisok a lamina basalis területén már igen korán (a 27. embrionális napon) kialakulnak a zona marginalis és a zona nuclearis határán, a korai marginális zónát létrehozó interneuronok, commissurális és asszociációs interneuron-axonok és a primitív motoneuronok között. A lamina alaris területén a primitív synapsisok két nappal később (E 29) jelennek meg; a praesynaptikus elemet a His-féle ovalis köteget alkotó hátsó gyöki axonok, míg a postsynaptikus elemet az ovális köteg és a zona nuclearis határán elhelyezkedő, általunk határ- ("borderline") sejteknek nevezett neuronok alkotják.

Vizsgálati eredményeink megegyeznek más emlős állatok⁹⁵ illetve az ember gerincvelőjében⁹⁶ leírt synaptogenetikus törvényszerűségekkel; nem támasztják alá viszont Bodian és mtsai^{93,94} ugyancsak majom gerincvelő vizsgálata során kapott eredményeit, melyek szerint a synapsisok képződése az "orthograd", azaz a dorso-ventralis sorrendet követné.

Amennyiben a határsejtek a commissuralis⁹⁷ illetve asszociációs⁹⁵ neuronokkal lennének azonosak, úgy a lamina alaris területén létrejövő első synapsisok egyben az első commissuralis és asszociációs reflexívek, többek között pl. a trigemino-spinalis reflex^{98,99} korai záródását is jeleznék. Vizsgálataink szerint azonban a lamina alaris területén képződő első synapsisok egy része megszűnik,

így ezek a transiens kapcsolatok vagy átmeneti funkciót töltenek be, vagy aberrans formáknak tekinthetők. Helyüket később komplex kapcsolati formák foglalják el (II. p. 1207, Fig. 1A–1C; p. 1208, Fig. 2A–2F).

A transiens synapsisok felszámolása részben összefügg az embrionális fejlődés során meghatározott rendben bekövetkező programozott idegsejt-pusztulással. Ismeretes, hogy az embrionális sejtpusztulás nemcsak az egyes neuronpopulációkon belül előforduló neuronok számát, hanem az interneuronális kapcsolatok precizitását is szabályozhatja. A gerincvelő fejlődése során a lamina alarisban legalább három, egymást követő fázisban zajlik le ilyen, a klasszikus értelmezés szerint ¹⁰⁰ "hisztogenetikus"-nak tekinthető sejtpusztulás: az E29–E31, E42–E45 és az E50–E53-as fejlődési stádiumokban PG (p. 228, Fig. 17.10; II. p. 1208, Fig. 2F). Az utolsó fázisban a "határvonali" sejtek teljes populációja degenerálódik, amit azóta mások is alátámasztottak ¹⁰¹. A sejtelhalások a lamina alarisban a prospektív hátsó szarv területén több dorso-ventrális irányú hasadékok hoznak létre (PG p. 219, Fig. 17.1; II. p. 1208, Fig. 2C). Az intermedier zónát a zona nuclearis primitív motoneuronális mezejétől elválasztó ferde hasadék létrejöttét a gerincvelő mellső szarvában ugyancsak sejtelhalások előzik meg (PG p. 219, Fig. 17.1).

A hátsó szarvi regeneratív synapto-neogenesis értelmezése szempontjából természetesen azok az embrionális folyamatok a legjelentősebbek, amelyek végül is a primér nociceptív analizátor kialakulásához vezetnek. *Macacus rhesus*-ban már az embrionális fejlődés 27. napján jelentős számban érik el a hátsó gyöki axonok a gerincvelőt, s fokozatosan kialakítják a His-féle ovalis köteget, a későbbi hátsó kötegi pályák telepét (III. p. 1207, Fig. 1A–1C).

A programozott sejtpusztulás révén létrejövő dorso-ventrális választóhasadékok és a medio-laterális irányban futó radiális glia-rostok sakk-tábla-szerűvé alakítják a lamina alarist (PG p. 230, Fig. 17/12). Így az elhalt sejtek helyén keletkezett résekben alakulnak ki az embrionális neuropiléma elsődleges rostkötegei. ³H-thymidin autoradiográfiával végzett kísérleteink szerint a neurogenesis utolsó szakaszában, a 38–42 embrionális napokban generálódó lamina I és II sejtek (PG p. 224, Fig. 17.6) vezetónyúlványai hatolnak be a hasadékokba, s ott a kontakt vezetés és csoportosulás elveinek megfelelően haladva, dendrit-kötegekké alakulnak, melyekből dendritikus növekedési kúpok ágaznak ki. Ide nőnek be a His-féle ovalis köteg rostkomponensei. 29 napos embrióban már kétféle axonális kúpot, illetve azokból származó filopodiumot lehet megkülönböztetni az ovalis kötegben (PG p. 219, Fig. 17.1): az 1. típusra világos axoplasma, míg a 2. típusra elektrondenz axoplasma jellemző (PG p. 221, Fig. 17/3; p. 222, Fig. 17/4; p. 223, Fig. 17/5). A kétféle növekedési kúp megtalálható a hátsó gyökérben is.

A hátsó gyöki növekedési kúpoknak és filopodiumaiknak a lamina alarisba való belépését követően indul meg a synaptogenesis az egyes hasadékok határvonalain (PG p. 229, Fig. 17/11). Ide nőnek be az ovalis kötegből az 1. és a 2. tí-

pusú axonok egyaránt, melyek szintén a kontakt vezetés elvének megfelelően, hosszabb szakaszon együtt futnak az ellenkező irányból jövő dendritekkel, majd fokozatosan *en passant* synapsisokat képeznek egymással (PG p. 231, Fig. 17/13). Minthogy mikrotubulusok kizárólag az összekötő nyeles szakaszokban találhatók, feltételezhető, hogy a későbbi sinusoid dilatációk ott jönnek létre, ahol az axonális transzport lelassulása folytán az axoplasma felhalmozódik.

A 2. típusú axonok, melyek később velőtlen C rostokká differenciálódnak, időrendileg hamarabb képeznek sinusoid terminálokat, mint az 1. típusú axonok; ezek viszont megjelenésük után gyorsabban érnek meg, s $A\beta$, illetve $A\delta$ afferensekké alakulnak.

Elektronmikroszkópos sorozatmetszeteink analízise alapján arra következtetünk, hogy a primitív synapsisokban a prae- és postsynaptikus elemek gyakorlatilag egyidejűleg jelennek meg, de rendszerint némi laterális eltolódással (PG p. 233, Fig. 17/14). A synapsis fő komponensei a laterális membránmozgások következtében kerülnek egy szintre, s ebben a helyzetben rögzíti őket az intersynapticus matrix.

A nociceptív analizátor felépítése és működése szempontjából jelentős a kimeneti ("output") sejtek fejlődése. Ezek az általunk "kollektor"-sejteknek nevezett neuronok a substantia gelatinosa-sejtek megjelenése előtt, a gerincvelői neurogenesis utolsó előtti fázisában, a 42. embrionális nap körül generálódnak, s az ovális köteg és a zona nuclearis határán csoportosulva, bonyolult dendritfát fejlesztenek ki, mely az ovális kötegbe nyomul be (PG p. 225, Fig. 17/1).

A kollektor-sejtek számos, különböző hátsó gyöki axonnal létesítenek synapsist. Ezek a synapsisok kezdetben kizárólag az ovális kötegben jönnek létre; utóbb a választóhasadékok területén is megjelennek (PG p. 226, Fig. 17/8, p. 227, Fig. 17/9). Nagy valószínűséggel állítható, hogy azok a kollektor-sejtek, amelyek megmaradnak eredeti helyükön, a marginalis vagy Waldeyer-sejtek praecursorainak felelnek meg. Ezek a nagy sejtek mind vékony (C és $A\delta$), mind vastag ($A\beta$) primér afferensekkel kapcsolatba lépnek, s a neospinothalamicus pálya eredő sejtjeiként foghatók fel¹⁰². A lamina alaris mélyébe süllyedő kollektor-sejtek viszont antenna-sejtekké alakulhatnak, melyek Szentágothai¹⁰³ szerint a substantia gelatinosa kimenetét biztosítják.

ANALÓGIÁK ÉS KÜLÖNBSÉGEK AZ EMBRIONÁLIS SYNAPTOGENESIS ÉS A REGENERATÍV SYNAPTO-NEOGENESIS KÖZÖTT

A gerincvelő embrionális fejlődésének olyan szembetűnő folyamatai, mint a neuronok generálódása, migratioja, letelepedése és differenciálódása, valamint egyes olyan neuronok elhalása, amelyek kezdetben létrehozzák a később axonokká illetve dendritekké differenciálódó vezető-és követő nyúlványok kinövéséhez szükséges "állványzatot" – nyomaiban sem észlelhetők a transganglionáris degeneratív atrophia következményeit helyreállító restitutív folyamatok során. Ugyanakkor viszont az az eseménysorozat, amely a hátsó szarv elpusztult illetve károsodott synapticus kapcsolatrendszerének helyreállításához vezet, sok tekintetben hasonlít az embrionális fejlődés menet során észleltekhöz. Vonatkozik ez elsősorban az axonális és dendritikus növekedési kúpokra s azok filopodiumaira, melyek jóformán azonosak az embrionális synaptogenesisben és a regeneratív synaptogenesisben. Az axonális növekedési kúpok finomabb szerkezete azonban már nem teljesen egyforma a két folyamatban: a regeneráció során ezek nagyobb mennyiségű axoplasmatikus reticulumot tartalmaznak, s filopodiumaikban is lényegesen több a synapticus vesicula, mint az embrionális szövetben. Feltételezhető, hogy ez annak tudható be, hogy a regenerációban érett, kifejlett spinális ganglionsejtek centrális nyúlványai vesznek részt, szemben a fiatal, éretlen embrionális dúcsejtekkel. Valószínűleg hasonló okra vezethető vissza a regenerálódó anyagban található dendritikus növekedési kúpok és filopodiumok lényegesen nagyobb mérete is.

Vizsgálataink szerint teljes értékű synapsisok a plasztikus, el nem kötelezett idegsejt-nyúlványok között alakulhatnak ki; s ennek érdekében a felnőtt idegrendszer érintett sejtjeinek is át kell menniök egyfajta dedifferenciálódási folyamaton. A regenerálódó axonális filopodiumok, melyek a növekedési kúpokból nőnek ki s melyek, legalábbis kezdetben, híján vannak a struktúrális differenciáltság bármilyen jelének, vitathatatlanul kielégítik ezeket a kritériumokat. Ugyanez igaz a dendritikus növekedési kúpokra nézve is, melyekből a dendritikus filopodiumok származnak. Emellett azonban tény az is, hogy a regeneratív synapto-neogenesis során, ha ritkábban is, a substantia gelatinosa sejtek látszólag érett dendritjei, sőt maguk a perikaryonok is szerepelhetnek postsynapticus elemként. Feltételezhető, hogy ilyenkor a sejteknek a praesynapticus bemenettől a transneuronális degeneráció következtében való deprivációja indít meg egy olyan dedifferenciálódási folyamatot, mely alkalmassá teszi őket arra, hogy az axonális nyúlványok synapsist képezzenek velük.

A synaptogenesis és a synapto-neogenesis során a glomerulusok centrális elemei hasonló vagy azonos mechanizmus alapján alakulnak ki, s ugyanolyan időbeli sorrendiség is jellemzi mindkét folyamatot; míg a három alapvető affe-

rens rost-típus egyaránt képes növekedési kúpok és filopodiumok kibocsátására, a C rostok centrális végződéseit jelző DSA terminálok mindkét esetben hamarabb jelennek meg, mint az $A\beta$ rostok (RSV) és az $A\delta$ rostok (LDCV) termináljai. A synapsis három komponense: a prae-, a post- és az intersynaptikus elem ugyancsak hasonló módon jelenik meg mindkét folyamat során. Ismeretes, hogy a praesynapticus innerváció szelektíven szabályozza a specializált postsynapticus membrán molekuláris komponenseit, melyek közül a legismertebbek az egyes fiziológiailag aktív makromolekulák, mint pl. a protein kinase¹⁰⁴, a calmodulin¹⁰⁵, a GABA receptorok¹⁰⁶ és a postsynaptikus membrán antigenje, a PSD-95¹⁰⁷.

Mindezen analógiák mellett, alapvető a különbség az embrionális synaptogenesis és a regeneratív synapto-neogenesis között a folyamat környezetét képező neuropilema szerkezetét tekintve. Embrióban a synaptogenesis környezete a velőcső éretlen neuropiléma; ezt az állományt a radiális glia rostjai hálózzák be, melyek a neuroblastok és nyúlványaik migrációjának itineráriumaként működnek. Ezzel szemben a regeneratív synapto-neogenesis, ami tulajdonképpen a reaktív synaptogenesis egyik fajtájának felel meg, érett neuropilben játszódik le.

Ugyanakkor viszont a regeneráció során a glia-nyúlványok, embrionális megfelelőjükhöz, a radiális gliarostokhoz hasonlóan, fontos szerepet töltenek be a dedifferenciálódott axonális és dendritikus elemek irányításában. Ebben a tekintetben jelentős, hogy a regeneratív proliferatio során a glia-elemek nem képeznek áthághatatlan akadályt a synapto-neogenesis és az azt megelőző axonelongatio számára.

A PRIMÉR ÉRZŐ NEURONOK GENUIN MARKER RENDSZEREI

A gerincvelő hátsó szarvában lejátszódó regeneratív folyamatok, s az azokat megelőző degeneratív jelenségek értelmezése szempontjából alapvető jelentőségű, hogy az elmúlt két évtized során számos olyan enzim, neuropeptid és membrán-specifikus szénhidrát-epitop felfedezésére került sor, melyek az elsődleges érző neuronok egyik vagy másik csoportját szelektíven megjelölik. Ezek a genuin markerek kivétel nélkül az érintett dúcsejtek perikaryonjában szintetizálódnak, s axoplasmatikus transzport révén mind a perifériás, mind a centrális axonnyúlványokban végighaladva, azok termináljait specifikusan megjelölik. Értelemszerűen a Waller-féle degeneráció és a TDA egyaránt ezen markerek depletiójához vezet, míg a regeneráció során újbóli megjelenésük egyértelműen jelzi az egyes markereket tartalmazó idegrostok illetve terminálok citokémiai értelemben vett restitúcióját.

1. Időrendileg először a fluorid-rezisztens savi foszfataz (FRAP) enzimnek a primér nociceptív neuronokra jellemző marker-szerepének felismerésére került sor^{108, 109}. Ezt követően kitűnt, hogy ez a feltehetőleg a purinerg transmissziós mechanizmusban szereplő enzim hisztokémiaailag azonos, vagy közeli kapcsolatban áll a thiamin monofoszfataz (TMPase) enzimmel, mely egyedülálló szelektivitással jelzi a kisméretű, sötét spinális ganglionsejteket s azok teljes perifériás és centrális axon-elágazódását. A TMPase, akárcsak a FRAP, az érző ganglionsejtek szemcsés endoplazmás retikulumában szintetizálódik; ezt követően a sejt Golgi apparátusába translocálódik (XII. p. 364, Fig. 1–3), s innen eljut a perifériára, ahol pl. a cornea nocisensor apparátusában a legfinomabb elágazódásokat az ezüstimpregnációs képekhez hasonlóan kirajzolja (XII. p. 366, Fig. 8). A központi idegrendszerben a TMPase mindazon struktúrákat szelektíven vizualizálja, ahol primér nociceptív neuronok centrális végelágazódásai találhatók, tehát elsősorban a substantia gelatinosa Rolandit (XII. p. 365, Fig. 4a; XIII. p. 127, Fig. 1; XVI. Fig. 1) és az ennek megfelelő nucleus caudalis n. trigeminit, a nucleus paratrigeminalist, a vagus nociceptor magcsoportját, valamint egyes gerincvelői szakaszokon a Lissauer-köteget, a Cajal-féle "faisceu de la corne postérieure"-t és "noyau basilaire externe"-t (XII. p. 366, Fig. 4b, 5, 6, 7). Az enzimaktivitásért felelős centrális végződés ultrastruktúrális *aequivalensei* a Rolando állományban a denz sinusoid axonok *en passant* terminálisai (DSA), melyekben az enzim axolemmális lokalizációjú (XII. p. 367, Fig. 9; XIII. p. 127. Fig. 2; p. 128, Fig. 4; XVI. Fig. 2.).

2. A neuropeptidok közül elsősorban az elismerten transmitter-funkciót betöltő P-anyag tekinthető a primer nociceptív neuronok markerének, de a somatostatin, VIP, gastrin, CCK, CGRP, AV ugyancsak a kisméretű spinális ganglionsejtekben termelődik. A neuropeptidok azonban nem szelektív marke-

rek, tekintve, hogy ezeket nem csupán a primer sensoros neuronok, hanem különböző intraspinalis és egyéb centrális neuronok is termelik s ennek megfelelően ezek nyúlványai is tartalmazzák. A SP-aktív, általában varicosus hátsó gyöki axonok jellegzetes eloszlást mutatnak a gerincvelő hátsó szarvának felszínes rétegeiben (XVII. Fig. 1), mely jelentősen különbözik a TMPase-aktív rostok centrális reprezentációjától, amennyiben a SP-aktivitás a legkifejezettebb a Rexed-féle I laminában és a II lamina külső felében, míg, amint az előbbiekben említettük, a TMPase egyértelműen a substantia gelatinosa Rolandi területére szorítkozik (XII. p. 127, Fig. 1; p. 129, Fig. 5; XVII. Fig. 10).

Ultrastruktúrális szinten az immunhisztokémiai SP reakció elektrondenz produktuma a varicosus axonoknak mind a praeterminális, mind a terminális szakaszában megtalálható. A bulbosus tágulatokra inkább a lekerekített, mintsem a sinusoid forma a jellemző, s synapticus kapcsolataik sem annyira komplexek, mint a FRAP- ill. TMPase-aktív termináloké. A SP-tartalmú végződések főleg dense core vesiculákat vagy kisméretű, sajátosan csoportokba rendeződő kerek synapticus vesiculákat tartalmaznak (XVII. Fig. 14 – 16). Ultrastruktúrális megfigyeléseink alátámasztják azt a felfogást, hogy a TMPase és az SP-aktív idegvégződések két különböző rostpopuláció képviselői.

3. A stádium-specifikus embrionális antigénekkal szoros genetikai kapcsolatot mutató, membránhoz kötött szénhidrát-epitopok fajonként különböző módon, egyes esetekben akár több subpopulációt is megjelölnek az érző ganglionsejtek között. Emberben egy fucose-tartalmú glycoconjugátum jelzi a kis-középnagy spinális ganglionsejteket s azok centrális nyúlványainak végkészülékeit a gerincvelő II. és III. laminájának határvonalán. A kisméretű spinális neuronoknak patkányban az I. laminában végződő centrális nyúlványai β -galaktoset, míg a II. laminában elágazódóak α -galaktoset tartalmaznak. A glycoconjugátumok a spinális ganglionsejtek Golgi apparátusában alakulnak ki (XV. p. 214, Fig. 1), s az axolemmába beépülve, különösen az axon terminális és praeterminális szakaszaiban koncentrálnak (XV. p. 216 – 217, Fig. 4 – 7).

MARKER ANYAGOK DEPLETIOJA

Minthogy az előző fejezetben felsorolt genuin jelzőanyagok (enzimek, neuropeptidek és glycoconjugátumok) a primér érző neuronok egyes csoportjainak központi végkészülékeiben koncentrálnak (ahová orthograd axoplasmatikus transzport révén jutnak el a perikaryonban történt szintézisük után), ezen terminálok rhizotomiát követő Waller-féle degenerációja értelemszerűen az érintett marker-anyagok "depletiójához" vezet. A depletio mértékét az szabja meg, hogy a marker anyag kizárólagos szelektivitású-e vagy sem; ezért pl. a TMPase depletioja teljes, míg a P-anyagé csak részleges (XII. p. 368, Fig. 10; XVII. Fig. 4–5).

Ugyancsak depletiohoz vezet a transganglionáris degeneratív atrophia is, függetlenül attól, hogy milyen mechanizmus okozta az idegnövekedési faktor és esetleges egyéb trophikus tényezők retrograd áramlásának blokádját (idegátvágás, zúzás, roncsolás, ligatura, mikrotubulus-gátló vegyületek vagy kompetitív gátlás). Ezesetben a depletio fokát a marker anyag szelektivitásán kívül az is meghatározza, hogy milyen mérvű az érintett perifériás ideg projekciója, illetve somatotópiás reprezentációja a hátsó szarvban.

Így pl. a n. ischiadicus átvágása vagy zúzása esetén a TMPase aktivitás depletiója az L5–L6 segmentumokban a legkifejezettebb, emellett részleges kieséssel az L2-től az S1 segmentumokig terjedően találkozunk (XII. p. 368, Fig. 11). Ezek az elváltozások csak a praeaxialis dermatoma reprezentációs területére, azaz a Rolando állomány medialis 2/3 illetve 3/4 részének TMPase aktivitására vonatkoznak, míg a postaxialis (dorsalis) dermatoma projekciója a Rolando állomány laterális csücskén változatlan marad (XII. p. 368, Fig. 11/c, XVI. Fig. 3.). A depletio térbeli kiterjedését, s így egyes perifériás nociceptív axonok centrális reprezentációját kimutató térképek (XVI. Fig. 4.) különösen a synaptogenetikus repletio értelmezése szempontjából nélkülözhetetlenek.

A SP-nek a TDA-okozta depletiója a n. ischiadicus átvágását követően a lumbalis gerincvelői segmentumokban sorozatmetszetek analysise szerint lényegileg hasonló módon következik be, mint a TMPase esetében, bár teljes aktivitás-kiesés – kivéve a substantia gelatinosa Rolandi legmediálisabb szakaszát – a korábban említett okoknál fogva nem következik be. A SP aktivitás csökkenése a 11. postoperatív nap körül éri el a maximumát és változatlan marad az általunk vizsgált leghosszabb követési időig, azaz az 53. napig (XVII. Fig. 6–7).

A n. ischiadicus roncsolása a műtétet követő első két hétben ugyanolyan mérvű és jellegű depletióhoz vezet, mint az ideg átvágása (XVII Fig. 8).

A n. ischiadicus átvágása illetve roncsolása két héten belül megindítja a lectin-pozitív carbohydrat epitopok eltűnését is a gerincvelő hátsó szarvának fel-

színes rétegeiből. Ezek teljes depleciója azonban lényegesen hosszabb időt vesz igénybe, mint akár a TMPase, akár a SP-aktivitás eltűnése, s csak a harmadik postoperatív hónapban válik teljessé. Ennek megfelelően a TDA összes ultrastruktúrális jellegzetességeit mutató sinusoid végződés axolemmáján még a műtéti beavatkozást követő harmadik héten is kimutatható a lectin-pozitivitás (XV. p. 217, Fig. 8–9).

MARKER ANYAGOK REPLETIOJA A REGENERATÍV SYNAPTO-NEOGENESIS SORÁN

A transganglionáris degeneratív atrophia során depletálódott markeranyagok a perifériás axon-transzport mechanizmus helyreállása után fokozatosan újra megjelennek a hátsó szarv felületes rétegeiben. A jelenség első leírása ⁴ óta eltelt évtized alatt a repletio bekövetkeztét több külföldi laboratóriumban igazolták ^{110, 111}.

A repletio patkányban a n. ischiadicus mechanikai roncsolása vagy lokális mikrotubulus-gátlása után már három héttel megkezdődik; retardált perifériás regeneráció esetén azonban jóval hosszabb idő is eltelhet a repletio megindulásáig. Elsősorban FRAP és TMPase markerek használata esetén eklatánsan megkülönböztethető az eredeti ép, erős enzimaktivitású terület a repletálódó, finom, gyengébb aktivitású zónától (XVI. Fig. 5.). Az ideg roncsolást követően különböző időpontokban készített sorozatmetszetek alapján kitűnik, hogy a repletio medio-lateralis és caudo-rostralis gradienseket követ (XVI. Fig. 6). Bár a citokémiai restitutio eredményeként (patkányban kb. 60 nap múlva) az enzimaktivitás kitölti az egész, eredetileg TMPase illetve FRAP-aktív zónát, intenzitása még egy év alatt sem éri el az eredeti mértéket (XVII. Fig. 12/b).

A restitutio finomszerkezeti vonatkozásait a TMPase elektroncitokémiai vizsgálata tárja fel. Ennek megfelelően a regenerálódó rostok növekedési kúpjai csak igen kis mennyiségben tartalmazzak TMPaset (XVI. Fig. 7–8), míg az axonális filopodiumok TMPase-aktivitása kifejezett. A regenerálódó axonok varicositásaiban éppúgy, mint az intervaricosus szakaszokban az enzim kezdetben kizárólag axoplasmatikus lokalizációjú (XVI. Fig. 7 ins., 9; XVI. Fig. 10). Később a varicositásokhoz kapcsolódó dendrit-profilok s az azokkal képzett synapsisok révén kialakulnak a sinusoid terminálok és glomerulusok (XVI. Fig. 11). Végül megindul a TMPase transzlokációja az axolemmális felszíni membrán felé (XV. Fig. 12–14).

A P-anyag repleciója fény- és elektronmikroszkópos immuncytokémiai vizsgálatok szerint lényegileg ugyanazon tér-idő-gradienseket követi, mint a marker enzimek. A SP immunreaktivitás visszatérése a 30. postoperatív napon statisztikusan is szignifikáns (XVII. Fig. 9; Table 5.), ami még kifejezettebb az 53. napon (XVII. Fig. 10–11). Elektron-immuncitokémiai vizsgálataink szerint már a 25. postoperatív naptól kezdve számos SP tartalmú axonális növekedési kúp és filopodium található a peptid-restitúció területén (XVII. Fig. 13; Fig. 17.); egyes filopodiumok végződése synaptikus kapcsolatot létesítenek dendritikus filopodiumokkal vagy érett dendritekkel (XVII. Fig. 18–20).

Az axolemmális membránhoz kötött glycoconjugátumok restitúciója hosszabb időt vesz igénybe.

A REGENERATÍV SYNAPTO-NEOGENESIS FUNKCIONÁLIS PARAMÉTEREI

A transganglionáris degeneratív atrophia során az érintett gerincvelői szegmentumok szenzoros funkcióval kapcsolatos reflex-tevékenysége ugyanúgy, mint a hátsó gyöki potenciál, karakterisztikus változásokat mutat. A "hot plate" teszt reakcióideje az eredetinek többszörösére nyúlik ¹¹²; a hátsó gyöki potenciál latenciája megnő és amplitúdója jelentősen csökken (PG. p. 141–142, Fig. 9/1, 9/2, 9/3).

A regeneratív synapto-neogenesis során a funkcionális paraméterek fokozatosan normalizálódnak s végül a kezdeti kontroll értékek szintjére állnak be. A "hot plate" teszt reakcióideje patkányban a 30.–40. napon kezd újra csökkenni, s az 50. napra normalizálódik ¹¹². A hátsó gyöki potenciál amplitúdója és latenciája később áll helyre (PG p. 216–217, Fig. 16/1, 16/2). A regeneratív synapto-neogenesis tehát a finomszerkezeti viszonyok és a hátsó szarv citokémiai architektúra restitúciója révén nemcsak struktúrális, hanem funkcionális értelemben véve is teljes értékű regenerációt eredményez a gerincvelő hátsó szarvának felszínes rétegeiben.

GYAKORLATI HASZNOSÍTÁS ÉS KUTATÁSI PERSPEKTÍVÁK

A tézisekben összefoglalt vizsgálatok tanúsága szerint a TDA következtében destruálódott hátsó szarvi központi idegrendszeri régió lényegileg spontán regenerálódik, mihamarabb az érintett perifériás ideg anatómiai folytonossága helyreáll. Hisztokémiai és radiokémiai vizsgálatok bizonyítják, hogy mind a TDA, mind a synapto-neogenetikai restitutio folyamatában az idegnövekedési faktor (NGF) fontos szerepet játszik; a TDA létrejöttében az NGF retrograd transzportjának megszakítása ¹¹³, a restitutív folyamatokban pedig az NGF transzportjának helyreállása a döntő tényező.

Nyilvánvaló, hogy az itt ismertetett synapto-neogenesis egyfajta adaptív regenerációnak felel meg. Vitathatatlanul igaz ugyanis ma is a néhai F. Kerr már idézett klasszikus megállapítása ², már t.i. ami a hibás huzalozásból fakadó téves kapcsolásokra, kóros reflexekre, hibás összeköttetésekre vonatkozik. Ha azonban a regeneratív synapto-neogenesis folyamán sor is kerül némi maladaptív regenerációra, az eliminálódik, amit a regeneratív synaptogenesis során gyakran észlelt spontán degeneráció valószínűvé tesz.

Közel áll a feltételezés, hogy ugyanúgy, ahogy az NGF transzganglionáris módon előmozdítja a hátsó gyöki terminál struktúrális és funkcionális synapto-neogenesisét, más típusú neuronok esetében is transzcelluláris szinten érvényesülhet azoknak a trophikus faktoroknak a hatása, amelyekkel egyre növekvő számban ismerkedhettünk meg az utóbbi évek során ^{114, 115}. Ezeket az eredményeket extrapolálva, legalábbis elvileg, ma már nem látszik teljesen elérhetetlennek Ramon y Cajal klasszikus célkitűzése: "it is for the science of the future to change, if possible, this harsh decree" ¹, azaz a centrális axonregeneráció hiánya könyörtelen törvényének a rehabilitatív orvostudomány érdekében való megváltoztatása.

Bár vizsgálataink egyértelműen bizonyítják a központi idegrendszerben elhelyezkedő axonok elongatiós és synapto-neogenetikus potenciálját, nem szabad figyelmen kívül hagyni azt az alapvető tényt, hogy e folyamatok praesynaptikus komponensei környéki idegrendszeri neuronok központi nyúlványai, melyeket mégcsak a Redlich-Obersteiner zóna hátsó gyöki barrierje sem gátol meg a regenerációban, lévén, hogy az egész restitúciós folyamat intraspinalisan játszódik le. Az esetleges gyakorlati alkalmazhatóságot megcélzó extrapolációnak ezért mindenekelőtt azt kell tisztáznia: mi az oka a gerincvelői restitutio esetében a neuropil feltűnő permisszivitásának, ami előfeltétele mind az axonelongationnak, mind a synapto-neogenesisnek. Már a szövettenyészet viszonylag egyszerű környezetében is bonyolult közegi hírvivő-anyagok teszik lehetővé az akadálytalan idegrost-növekedést; de az *in vivo* környezet sokszorosán bonyolultabb feltételrendszerei között mind a közeg hírvivő-rendszere, mind a kompartmentalizáció vonatkozásában minőségileg más, nagyságrenddel kompli-

káltabb összefüggésekre számíthatunk. Ennek kapcsán válik kiemelkedően fontossá az a körülmény, hogy az éretlen, embrionális astroglia (talán éppen plasminogen-tartalma folytán) előmozdítani képes az axon-elongatíót, míg az érett gliasejtek közismert heg-képző sajátosságai folytán áthághatatlan akadályt képezhetnek a regeneráció számára. Ezzel összefüggésben nem kevésbé feltűnő, hogy az embrionális élet első hónapjaiban a radiális glia kompartmentalizáló szerepe mellett, a kontakt vezetést szupportáló molekuláris szintű faktorok ¹¹⁶ révén közvetlenül irányítani képes az idegrostok növekedését, míg az intrauterin élet második szakaszában fokozatosan eltűnik s csak helyenként marad meg, jóformán nyomokban. S végül, de nem utolsó sorban említendő ebben az összefüggésben a basalis membránok laminin, fibronectin, heparansulfat és egyéb proteoglykan típusú molekuláinak és az axonok laminin-receptorainak ¹¹⁷, valamint a gliasejtek által produkált diffuzibilis anyagoknak az a már említett "üzenet-közvetítő" szerepe, melyek hiánya talán elsősorban lehet oka a központi idegrendszer regenerációs inertiájának. Ezen kérdések molekuláris neurobiológiai szintű megválaszolásában, ami a gyakorlati alkalmazási lehetőség realizálásának előfeltétele, az értekezésben ismertetett transganglionaris degeneratív és regeneratív folyamatok modell-értékűnek tekinthetők.

1. Cajal SR: in "Degeneration and Regeneration of the Nervous System" (ed. May RM) Oxford University Press, London (1928) p. 750.
2. Kerr FWL: Brain Res. 43, 547–560 (1972).
3. Raisman G: Neurosci. 14, 237–254 (1985).
4. Csillik B, Knyihár E: Z. Mikrosk.-anat. Forsch. 89, 1099–1103 (1975).
5. Hooker D: J. comp. Neurol. 56, 277–297 (1932).
6. Lorente de Nó R: Trab. lab. invest. biol. Univ. Madrid 19, 147–181 (1921).
7. Percy JF, Koppányi T: Proc. soc. exp. Biol. N.Y. 22, 17–19 (1924).
8. Piatt J: J. exp. Zool. 129, 177–207 (1955).
9. Marón K: Folia biol. Krakow 7, 179–189 (1959).
10. Egar M et al: J. Morphol. 131, 131–152 (1970).
11. Rovainen CM: J. comp. Neurol. 168, 545–554 (1976).
12. Bernstein JJ et al: in "Physiology and Pathobiology of Axons" (ed. Waxman S) Raven Press, New York (1978).
13. Selzer M: Reg. Research Newsletter 5 (1988).
14. Cohen A: Reg. Research Newsletter 5 (1988).
15. Leonard RB et al: J. comp. Neurol. 179, 13–22 (1978).
16. Birse SG et al: J. comp. Neurol. 194, 291–301 (1980).
17. Cajal SR: Trab. lab. invest. biol. Univ. Madrid 7, 4 (1906).
18. Cajal SR: in "Degeneration and Regeneration of the Nervous System" (ed. May RM) Oxford University Press, London (1928) p. 482.
19. Bielschowsky M: J. Psychol. Neurol. 14, 131 (1909).
20. Marinesco G, Minca J: J. Psychol. Neurol. 17, 11 (1910).
21. Pettigrew RK, Windle WF: Exp. Neurol. 53, 815–829 (1976).
22. Puchala E, Windle WF: Exp. Neurol. 55, 1–42 (1977).
23. Brown JO et al: J. comp. Neurol. 87, 131–138 (1947).
24. Windle WF: Am. N. York Acad Sc. 14, 159–161 (1952).
25. Windle WF et al: J. comp. Neurol. 96, 359–370 (1952).
26. McMasters RE: J. comp. Neurol. 119, 113–116 (1962).

27. Bernstein JJ, Bernstein ME: *Exp. Neurol.* 30, 336–351 (1971).
28. Bernstein JJ, Bernstein ME: *Brain Behavior and Evolution* 8, 135–161 (1973).
29. Sugar O, Gerard RW: *J. Neurophysiol.* 3, 1–19 (1940).
30. Kao CC: *Exp. Neurol.* 44, 427–439 (1974).
31. Björklund A et al: *Brain Res.* 31, 21–33 (1971).
32. Björklund A, Stenevi U: *Physiol. Rev.* 59, 62–101 (1979).
33. Nobin A et al: *Brain Res.* 56, 1–24 (1973).
34. Nygren LG et al: *Brain Res.* 78, 377–394 (1974).
35. Richardson PM et al: *Brain Res.* 237, 147–162 (1982).
36. Richardson PM, Verge VMK: *J. Neurocyt.* 15, 585–594 (1986).
37. Gerard RW, Koppányi T: *Amer. J. Physiol.* 76, 211–212 (1926).
38. Freeman LW: *Am Surg.* 136, 193–205 (1952).
39. Kalil K, Reh T: *Science* 205, 1158–1161 (1979).
40. Clark WE: *J. Anat.* 77, 20–48 (1942).
41. Schreyer DJ, Jones EG: *Neurosci.* 9, 31–40 (1983).
42. Carlstedt T: *Brain Res.* 272, 162–165 (1983).
43. Reirer PJ et al: in "Spinal Cord Reconstruction" (eds Kao CC, Bunge RP, Reirer PJ) Raven Press, New York (1983) p. 163–195.
44. Carlstedt T: *Brain Res.* 272, 162–165 (1983).
45. Carlstedt T: *Neurosci.* 15, 507–518 (1985).
46. Carlstedt T et al: *Neurosci. Letters* 74, 14–18 (1987).
47. Carlstedt T: *J. Neurocyt.* 17, 335–350 (1988).
48. Berthold C-H et al: in "Peripheral Neuropathology" (eds Dyck PJ, Thomas PK, Lampert EH and Bunge RP) Philadelphia, Saunders Vol. 1. 2nd edn, (1984) p. 156–170.
49. Tower SS: *Arch. Neur. Psychiat. Chi.* 49, 1–12 (1943).
50. Liu CN, Chambers WW: *Am. J. Physiol.* 183, 640–641 (1955).
51. McCouch GP et al: *J. Neurophysiol.* 21, 205–216 (1958).
52. Goldberger ME, Murray M: *J. comp. Neurol.* 158, 37–54 (1974).
53. Cotman CW: *Neural Plasticity*, Raven Press, New York (1978).
54. Stelzner DJ et al: *Brain Res.* 172, 407–426 (1979).
55. Pubols LM, Goldberger ME: *J. Neurophysiol.* 43, 102–117 (1980).
56. Tessler A et al: *Brain Res.* 191, 459–470 (1980).
57. Tessler A et al: *Brain Res.* 305, 95–102 (1984).
58. Hulsebosch CE, Coggeshall RE: *Brain Res.* 224, 170–174 (1981).
59. McNeill DL, Hulsebosch CE: *Neurosci. Lett.* 81, 57–62 (1987).
60. Kerr FWL: *Anat. Rec.* 169, 355 (1971).
61. Stelzner DJ et al: *Brain Res.* 172, 407–426 (1979).
62. Rustioni A: *Exp. Brain Res.* 23, 1–12 (1975).
63. Rodin BE et al: *J. comp. Neurol.* 215, 187–198 (1983).
64. Pubols LM, Brenowitz GL: *J. Neurophysiol.* 47, 103–111 (1982).
65. Semba K et al: *J. comp. Neurol.* 221, 466–481 (1983).
66. Ralston HJ: *J. Neurophysiol.* 51, 777–792 (1984).
67. Coimbra A: *Anat. Embryo.* 170, 279–287 (1984).
68. Semba K et al: *Brain Res.* 302, 135–150 (1984).
69. Moradian GP, Rustioni A: *Anat. Rec.* 187, 660 (1977).
70. Gobel S, Binck JM: *Brain Res.* 132, 347–354 (1977).
71. Aldskogius H, Arvidsson J: *J. Neurocyt.* 7, 229–250 (1978).
72. Arvidsson J, Grant G: *Brain Res.* 162, 1–12 (1979).
73. Westrum LE, Canfield RC: *Exp. Neurol.* 65, 169–177 (1979).
74. Grant G, Ygge J: *J. comp. Neurol.* 202, 357–364 (1981).
75. Westrum LE et al: *J. comp. Neurol.* 230, 198–206 (1984).
76. Gobel S: *J. Neurosci.* 4, 2281–2290 (1984).
77. Kappadia SE, La Motte CC: *J. comp. Neurol.* 266, 183–197 (1987).
78. Horch K: *Brain Res.* 151, 581–586 (1978).
79. Horch KW, Lisney SJW: *J. Physiol.* 313, 287–299 (1981).
80. Wall PD, Devor M: *Brain Res.* 209, 95–111 (1981).
81. Sugimoto T, Gobel S: *Brain Res.* 321, 199–208 (1984).
82. Sugimoto T et al: *Brain Res.* 323, 320–325 (1984).

83. Sugimoto T et al: Pain 27, 91–100 (1986).
84. Wood MR, Faber DS: J. comp. Neurol. 244, 413–429 (1986).
85. Aldskogius H et al: Brain Res. Rev 10, 27–46 (1985).
86. Majumdar S et al: Neurosci. 10, 841–849 (1983).
87. Skoff RP, Hamburger V: J. comp. Neurol. 153, 107–147 (1974).
88. Bovolenta P, Mason C: J. Neurosci. 1447–1460 (1987).
89. Arvidsson J: J. Neurocytol. 8, 31–45 (1979).
90. Rakic P, Sidman RL: J. comp. Neurol. 152, 103–132 (1973).
91. Altman J, Anderson WJ: J. comp. Neurol. 146, 355–406 (1972).
92. Llinas R et al: J. Neurobiol. 4, 69–94 (1973).
93. Bodian D: Bull. Johns Hopkins Hospital V. 119, 2, 129–149 (1966).
94. Bodian D et al: J. comp. Neurol. 133, 113–166 (1968).
95. Vaughn JE, Grieshaber JA: J. comp. Neurol. 148, 177–209 (1973).
96. Okado N et al: Comp. Neurology 184, 491–518 (1979).
97. Cajal SR: in "Studies on Vertebrate Neurogenesis" (ed. Guth L) Thomas, Springfield, (1960).
98. Humphrey T: J. comp. Neurol. 97, 143–210 (1952).
99. Humphrey T: Prog. Brain Res. 4, 93–135 (1964).
100. Jacobson M: Developmental Neurobiology. Plenum Press, New York (1978).
101. Clarke PGH: J. comp. Neurol. 234, 365–379 (1985).
102. Kerr FWL: Pain 1, 325–356 (1975).
103. Szentágothai J: J. comp. Neurol. 122, 219–240 (1964).
104. Kelly PT, Cotman CW: J. Biol. Chem 254, 1564–1575 (1979).
105. Grab DJ et al: J. Biol. Chem. 254, 8690–8696 (1979).
106. Matus A et al: J. Neurobiol. 12, 67–73 (1981).
107. Sampedro NM et al: J. Cell Biol. 90, 675–686 (1981).
108. Knyihár E: Experientia 27, 1205–1207 (1971).
109. Knyihár-Csillik E, Csillik B: Prog. Histochem. Cytochem. 14, 1 (1981).
110. Devor M, Claman D: Brain Res. 190, 17–28 (1980).
111. Fitzgerald M, Vrbova G: J. comp. Neurol. 240, 414–422 (1985).
112. Szücs A et al: Acta Biol Hung. 34, 267–273 (1983).
113. Csillik B et al: Brain Res. 331, 11–15 (1985).
114. Black JB: Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 83, 8249–8252 (1986).
115. Unsicker W et al: Dev. Brain Res. 17, 117–129 (1985).
116. Abbott NI: Nature 332, 490–491 (1988).
117. Edgar D, Nurcombe VJ: J. Physiol. (Lond.) 400, 68P (1988).

A TÉZISEK ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ PUBLIKÁCIÓK

PG: Csillik B. and Knyihár-Csillik E: The Protean Gate. Structure and Plasticity of the Primary Nociceptive Analyzer. Akadémiai Kiadó, Budapest, (1986)

EN: Encyclopedia of Neuroscience. Ed: Adelman G. Birkhauser, Boston, (1987)

Knyihár-Csillik, E. and Csillik, B: Synapto-neogenesis, regenerative, in the mammalian central nervous system p. 1177–1178

Csillik, B. and Knyihár-Csillik, E: Degeneration, transganglionic p. 306–308

Knyihár-Csillik, E. and Csillik, B: Degeneration, transneuronal p. 308–309

I. Knyihár, E. and Csillik, B: Effect of peripheral axotomy on the fine structure and histochemistry of the Rolando substance: Degenerative atrophy of central processes of pseudounipolar cells. *Exp. Brain Res.* 26, 73–87 (1976)

II. Knyihár, E., Csillik, B. and Rakic, P: Transient synapses in the embryonic primate spinal cord. *Science* 202, 1206–1209 (1978)

III. Csillik, B. and Knyihár, E: Biodynamic plasticity in the Rolando substance. *Progress in Neurobiology* 10, 203–230 (1978).

IV. Knyihár-Csillik, E. and Csillik, B: FRAP; Histochemistry of the primary nociceptive neuron. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* 14, 1–137 Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York (1981).

V. Knyihár-Csillik, E. and Csillik, B: Selective "labelling" by transsynaptic degeneration of substantia gelatinosa cells: an attempt to decipher intrinsic wiring in the Rolando substance of primates. *Neuroscience Letters* 23, 131–136 (1981).

VI. Knyihár-Csillik, E., Csillik, B. and Rakic, P: Ultrastructure of normal and degenerating glomerular terminals of dorsal root axons in the substantia gelatinosa of the Rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology* 210, 357–375 (1982).

VII. Knyihár-Csillik, E., Csillik, B. and Rakic, P: Periterminal synaptology of dorsal root glomerular terminals in the substantia gelatinosa of the spinal

cord in the Rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology* 210, 376–399 (1982).

VIII. Csillik, B., Kiss, J., Knyihár-Csillik, E. and Lajtha, A: Effect of transganglionic degenerative atrophy on opiate receptors in the dorsal horn of the spinal cord. *Journal of Neuroscience Research* 8, 665–670 (1982).

IX. Léránth, Cs., Csillik, B. and Knyihár-Csillik, E: Depletion of substance P and somatostatin in the upper dorsal horn after blockade of axoplasmic transport. *Histochemistry* 81, 391–400 (1984).

X. Knyihár-Csillik, E., Rakic, P. and Csillik, B: Fine structure of growth cones in the upper dorsal horn of the adult primate spinal cord in the course of reactive synapto-neogenesis. *Cell Tissue Res.* 239, 633–641 (1985).

XI. Knyihár-Csillik, E., Rakic, P. and Csillik, B: Reactive synapto-neogenesis in the upper dorsal horn of the adult primate: regenerative or collateral sprouting? *Development and Plasticity of the Mammalian Spinal Cord* (eds. Goldberger, M., Gorio, A. and Murray, M.) *Fidia Research Series*, Vol. III. 191–211 Liviana Press, Padova (1986)

XII. Knyihár-Csillik, E., Bezzegh, A., Bóti, S. and Csillik, B: Thiamine monophosphatase: a genuine marker for transganglionic regulation of primary sensory neurons. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 34, 363–371 (1986)

XIII. Csillik, B., Knyihár-Csillik, E. and Bezzegh A: Comparative electron histochemistry of thiamine monophosphatase and substance P in the upper dorsal horn. *Acta histochem.* 80, 125–134 (1986)

XIV. Knyihár-Csillik, E., Rakic, P. and Csillik, B: Transganglionic degenerative atrophy in the substantia gelatinosa of the spinal cord after peripheral nerve transection in rhesus monkeys. *Cell Tissue Res.* 247, 599–604 (1987)

XV. Tajti, J., Fischer, J., Knyihár-Csillik, E. and Csillik, B: Transganglionic regulation and fine structural localization of lectin-reactive carbohydrate epitopes in primary sensory neurons of the rat. *Histochemistry* 88, 213–218 (1988)

XVI. Knyihár-Csillik, E., Kreutzberg G.W. and Csillik, B: Enzyme translocation in the course of degeneration of central primary afferent terminals in the substantia gelatinosa of the adult rodent spinal cord. *Journal of Neuroscience Research* (in press)

XVII. Knyihár-Csillik, E., Török, Á. and Kreutzberg, G.W: Regulation and regeneration of Substance P-containing axon terminals in the upper spinal dorsal horn: Depletion and replenishment of a nociceptive neuropeptide. *Histochemistry* (in press)